

P. Laudat, A. Gendre, C. Chillou, Laboratoire Arnaud - TOURS, France

A - Pourquoi une standardisation paraît nécessaire

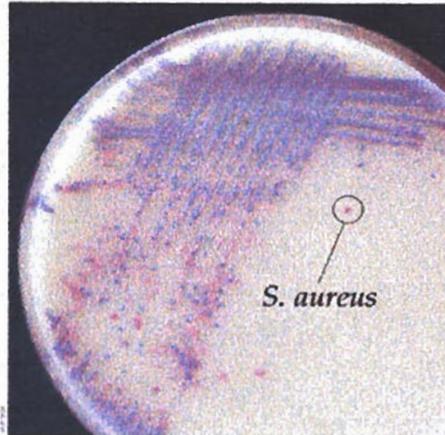
**1. OUTIL DES ENQUÊTES
ÉPIDÉMIOLOGIQUES**

Les changements des méthodes de cultures peuvent modifier les taux de résistance : incidence et prévalence [2]
Les indicateurs de résultats retenus serviront pour comparer les établissements ou les services [1]

**2. OUTIL DE LA POLITIQUE
D'ISOLEMENT**

Les résultats du dépistage à l'admission conditionnent la réussite de celle-ci.
La mise en place ou la levée de l'isolement sont conditionnées par le niveau de sensibilité, de spécificité et de rapidité de la méthode employée.

CHROMagar™ Staph aureus



ABSTRACT

Staphylococcus aureus résistant ou non à la méthicilline (SARM et SASM) représente un défi majeur en santé publique dans de nombreux établissements de soins partout dans le monde. Aussi, il est nécessaire de disposer de méthodes éprouvées normalisées pour les études comparatives épidémiologiques. [1]

Ceci commence par le prélèvement et l'ensemencement :
1) prélèvement par écouvillonnage des fosses nasales avec un écouvillon transport et transfert rapide au laboratoire
2) ensemencement sur un « milieu adapté » dont le choix va conditionner la sensibilité du dépistage et donc les conclusions ultérieures. Les milieux retrouvés dans la littérature :
• Milieu non sélectif, Gélose au sang, Milieu ordinaire (?), ou Milieu sélectif, Gélose mannitol hypersalée.
• Sans ou avec antibiotiques et dans ce cas lecture à 24 ou 48 heures
• Quels antibiotiques : tobramycine, ofloxacine ou oxacilline et quelles concentrations (oxacilline 2 ou 4 mg/L ?)
• Rares évaluations disponibles
Pour illustrer ce propos, nous rapportons les résultats d'une évaluation d'un nouveau milieu chromogène CHROMagar™ Staph aureus pour la détection rapide (18 - 24 heures) de *S. aureus*.
Chez 142 patients devant subir une intervention chirurgicale cardiaque, un prélèvement par écouvillonnage des fosses nasales (CULTURETTE™ Becton Dickinson - France) a été réalisé et ensemencé sans délai sur 2 milieux sans antibiotique : Gélose au sang (BBL Trypticase Soy Agar - 9% Sang Mouton B.D.) et CHROMagar™ Staph aureus (CHROMagar Microbiology - France). Incubation 18 - 24 heures à 37°C en étuve 5% CO₂. Les colonies suspectes sur géloses au sang ou autres sur milieu CHROMagar™ Staph aureus ont été identifiées par méthode conventionnelle, catalase, agglutination PASTOREX™ STAPH-PLUS (Sanofi Diagnostics Pasteur) et biochimique à l'aide des plaques Microscan™ (Dade BEHRING-France).
26 / 26 porteurs de *S. aureus* ont été détectés sur milieu CHROMagar™ Staph aureus (Se 100%) contre 22/26 (Se 85%) sur gélose au sang. Le seul porteur de MRSA a été retrouvé par les 2 techniques.
Le rendement d'identification des porteurs de *S. aureus* est meilleur en utilisant le milieu CHROMagar™ Staph aureus. Le court délai de réponse favorise la mise en place rapide des traitements ou des mesures d'isolement. [1]

B - Données retrouvées dans la littérature

1. A L'OCCASION D'ENQUÊTES ÉPIDÉMIOLOGIQUES

Milieux utilisés	Incubations Conditions	Année	Références
Gélose Ordinaire ou Gélose au sang		1994	BRUN-BUISSON C. et Coll. [3]
Milieu hypersalé + Oxacilline (6 mg/l) Milieux non sélectifs (trypticase soja)	35°C / 24 H puis 5 jours température ambiante	1995	MOUNIER M. et Coll. [4]
Milieux sélectifs (ou non) avec antibiotiques Mueller - Hinton + tobramycine 10 mg / L Mueller - Hinton + pefloxacine 2 mg / L Chapman + oxacilline 5 mg / L	37 °C / 24 H 37 °C / 24 H 37 °C / 48 H	1998	MARTY L., JARLIER V. [5] ONERBA - Protocole d'enquête [6]
Milieux Mueller Hinton + tobramycine 10 mg / L		1999	BAILLY et Coll. [7]

2. COMPARAISON DE TROIS PROTOCOLES DE DÉPISTAGE (GARDAM M.A. et coll. , ICAAC, 1999) [8]

TROIS PROTOCOLES	M - 2 M - 4 B P	Gélose Mannitol Hypersalée + Oxacilline 2 mg / L Gélose Mannitol Hypersalée + Oxacilline 4 mg / L Bouillon enrichissement Staphylocoque 24 H / 37°C, Puis repliquage : Gélose Sang (non sélectif) + Milieu M-4
RESULTATS	1. BP détecte plus de MRSA que M - 2 (× 24 %) M - 4 (× 16 %)	
CONCLUSION	2. Le délai de réponse n'est augmenté que pour 16% des échantillons	
CONCLUSION	Le rendement des dépistages des SARM est meilleur en utilisant l'étape du bouillon d'enrichissement staphylocoque.	

Références

[1] CTIN (Comité Technique National des Infections Nosocomiales). Maîtrise de la diffusion des Bactéries Multirésistantes aux antibiotiques. Ministère de l'Emploi et de la Solidarité, Secrétariat d'Etat à la Santé et à l'Action Sociale, Paris, 1998.
[2] GOETTSCHE W., GEUBBELS E., WANNET W., HENDRIX M.G.R., WAGENVOURT J.H.T., DE NEELING A.J., Les SARM dans les hôpitaux de long et moyen séjour aux Pays-Bas de 1988-1990 : un réservoir en expansion ? Eurosurveillance, 2000, 5, 28-31.
[3] BRUN-BUISSON C., RAUSS A., LEGRAND P. et coll., Traitement du portage nasal de *Staphylococcus aureus* par la mupirocine nasale et prévention des infections acquises en réanimation. Etude multicentrique contrôlée. Méd. Mal. Infect., 1994, 24, 1229-38.
[4] MOUNIER M., PLOY M.C., FRANCOIS B., DELAIRE L., DENIS F., GASTINNE H., Dynamique de la coloration nasale par *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) chez les malades hospitalisés dans un service de réanimation. Path. Biol., 1995, 43, 329-335.
[5] MARTY L., JARLIER V., Surveillance des Bactéries Multirésistantes : Justification, Rôle du Laboratoire, Indicateurs, Données Françaises récentes. Path. Biol. 1998, 46, 217-228.
[6] PEAN Y., JARLIER V., Recommandations méthodologiques du Conseil Scientifique de l'ONERBA pour la surveillance de la résistance aux antibiotiques. Lettre Infectiologue, 1999, 15, 121-3.
[7] BAILLY P., MILJIN B., MINARY P., TALON D., Contrôle des infections à *Staphylococcus aureus* méthicillino-résistant dans un CHU : analyse critique des résultats obtenus. Méd. Mal. Infect., 1999, 29, 178-183.
[8] GARDAM M.A., LO S., WILEY B., MCGEEER A., BRUNTON J., LOW D., CONGY J.M., A multicenter blinded comparison of three laboratory screening protocols for the identification of patients colonised with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ICAAC, 1999, San Francisco, Abs 872.
[9] KALMEISER M.D., VAN NIEUWLAND-BOLLEN E., BOGAERS-HOFMAN D., DE BAERE G.A.J., KLUYTMANS J.A.M., Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* is a major of risk factor for surgical-site infections in orthopedic surgery. Infect. Control. Hosp. Epidemiol., 2000, 25, 319-323.
[10] GAILLOT O., WETSCH M., FORTINEAU N., BERCHE P., Evaluation of CHROMagar Staph. aureus, a New Chromogenic Medium, for isolation and Presumptive identification of *Staphylococcus aureus* from human clinical specimens. J. Clin. Microbiol., 2000, 38, 1587-91.
[11] BOUCHARD O., BOSSERAY A., QUEYREL V., GAVAZZI G., CROIZE J., LECLERCQ P., MCOUD M., Expérience d'une « unité d'isolement » dans la prise en charge de patients porteurs de bactéries multirésistantes. Presse Méd., 1999, 28, 1405-8.

C - Evaluation du milieu CHROMagar™ Staph.aureus

1. MATERIEL ET METHODES

- **Echantillons / Prélèvements**
Écouvillonnage nasal (CULTURETTE™ Becton Dickinson - France) à l'admission de 142 patients devant subir une intervention pour chirurgie cardiaque entre Juin et Août 1999.
- **Milieux de Culture et Technique d'ensemencement :**
— Milieux :
• BBL Trypticase Soy Agar (5 % Sang mouton) (Becton Dickinson - France - N°ADM J74111). Il sera considéré comme méthode de référence pour cette étude.
• CHROMagar™ Staph. aureus (Réf. TA 002, lot 003) qui a été préparé et codé au niveau du laboratoire selon les recommandations du fabricant.
— L'ensemencement a été réalisé par épaissement et isolement sur les 2 milieux.
— L'incubation est réalisée dans une étuve à 37°C, 5% de CO₂, durant 18-24 heures.
— Le dénombrement est réalisé de manière approximative en raison de l'inoculation par épaissement de l'écouvillon, mais il permet de rendre compte de l'abondance de la population de *S. aureus* présent dans le prélèvement. [8]
La pré-identification : Les *S. aureus* recherchés sont repérés :
➢ Sur milieu CHROMagar™ Staph. aureus : colonie massive et confirmation sur boîte à l'aide du réactif Pastorex™ Staph. Plus (Sanofi Diagnostics Pasteur)
➢ Sur gélose au sang : aspect des colonies et confirmation sur boîte selon le même principe.
— L'identification définitive : elle a été réalisée, de même que l'antibiogramme, à l'aide des plaques Microscan (DADE)

2. RESULTATS

• Comparaison semi quantitative [8] 142 prélèvements analysés

BD TSA CHROMagar™ Staph. aureus	5% Sang Mouton 5% CO ₂	Négatif	1 - 100	> 100
Négatif		116		
1 - 100		3	10	2
> 100		1	1	3

Discordances 4 / 142

- Au total :
— 26 porteurs (18 %) de *S. aureus* ont été correctement détectés sur le milieu CHROMagar™ Staph. aureus contre 22 (15 %) sur gélose au sang.
— Une seule souche parmi les 26 est résistante à l'oxacilline (MRSA : 3,8 %).
— L'identification présomptive d'après la couleur des colonies a toujours été confirmée par la méthode conventionnelle. Dans les 2 cas, des difficultés de lecture ont été rencontrées, après vérification il ne s'agissait pas de *S. aureus*.
La lecture a été réalisée après 24 heures d'incubation à 37 °C, la poursuite au-delà rend la lecture difficile.

3. CONCLUSION

Le milieu CHROMagar™ Staph. aureus convient parfaitement pour la recherche de porteur de *S. aureus* en secteur hospitalier [10]

CONCLUSIONS

1. Pour un meilleur rendement du dépistage de SARM, une étape en bouillon d'enrichissement est nécessaire en cas d'utilisation de milieux avec antibiotiques.
2. Le milieu CHROMagar™ Staph. aureus constitue une alternative aux méthodes conventionnelles pour l'identification présomptive et le dépistage de *S. aureus*.
3. Le dépistage rapide (inférieur à 48 heures) et fiable (sensibilité, spécificité) de SARM en routine n'est pas actuellement résolu.